

콩기름의 자동산화에 미치는 스쿠알렌과 토코페롤의 항산화 효과

김대봉 · 오문헌
충청전문대학 식품공업과

The effect of squalene and tocopherols on their autooxidation of bean oil

Dae-Bong Kim and Moon-Hun Oh

Dept. of Food Science and Technology, Chungcheong Junior College, Cheongwon, Chungbuk, 363-890, Korea

Abstract

In this study, the attempts were made to investigate the effect of squalene(200 ppm) on the autooxidation of soybean oil. The effect of mixed-tocopherols(200 ppm) was also studied in the same way and the results of the study were compared with those of squalene. A part of a commercial soybean oil was stored at $45.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ for their autooxidation. The extent of the autooxidation was estimated from the changes of the peroxide value and % conjugated dienoic acid content of the oil substrates. The results of the autooxidation, squalene in the soybean oil substrate showed antioxidant activity but the activity was weaker than that of mixed-tocopherols with the same concentration. The induction periods of the control and substrates with the same concentration. The induction periods of the control and substrates with squalene and mixed-tocopherols were 448.5, 504.9, and 668.9 hours, respectively. Time required to reach a POV of 30meq/kg oil.

Key words : soybean oil, autoxidation, squalene tocopherols peroxide value, % conjugated dienoic acid.

서 론

지방질은 탄수화물, 단백질과 함께 식품의 3대 영양소의 하나로 식품의 가공 조리에도 널리 이용되고 있다. 지방질은 매우 효율높은 칼로리원일 뿐만 아니라 필수 지방산과 각종 지용성 비타민을 공급해 주는 중요한 영양소이다.¹⁻³⁾

식용유지는 가공이나 저장 중에 공기와 접촉하여 산패를 일으킬 수 있으며 그 결과 이취를 발생하거나 독성 물질을 형성하여 품질의 저하를 초래하게 된다.^{4,5)}

유지의 산화로 형성된 과산화물은 동물 성장을 저하시키고, 고온에서 오래 가열한 식용유에서 형성된 산화 생성물 중에는 동물의 장에서 암을 발생하는 것이 있다.⁶⁻⁸⁾

유지의 산화는 자동산화, 감광체에 의한 산화, $140 \sim 200^\circ\text{C}$ 의 고온공기와 접촉하여 일어나는 가열산화가 있다.⁹⁾ 식용유지나 지방질 식품의 산패를 억제하는 데 가장 효과적인 방법은 식품과 공기중의 산소와 접촉을 차단하거나 항산화제를 사용한다. 식품 항산화제는 유지나 지방질 식품에 원래 존재하는 것들과 산화를 억제하

기 위해 첨가하는 합성 항산화제가 있다.¹⁰⁾

합성 항산화제인 BHA, BHT는 항산화 효과가 매우 우수하지만 실험동물에 암 또는 기형을 유발한다는 일부 결과가 있다.^{11,12)} 그래서 독성작용이 없는 천연 항산화제를 개발하려는 노력이 활발해지고 있다.^{13,14)}

스쿠알렌은 동식물성유지와 인간의 표피지방질에 함유되어 있으며 콜레스테롤과 스테로이드 호르몬의 전구체이다.^{15,17)}

스쿠알렌은 체내조직의 부화작용을 하며 위궤양, 간장질환에 대하여 유효하고,¹⁸⁾ 항산화 효과가 있다고 한다.¹⁹⁾ Rao 등의 결과¹⁹⁾에 따르면 0.02%의 스쿠알렌을 첨가한 methyloleate와 methylinoleate의 자동산화에서 초기에는 천연 토코페롤 즉 혼합-토코페롤 보다 항산화력은 우수하였지만 유도기간이 지나면 효과가 상대적으로 감소하였다고 한다. 그러나 식용유지나 지방질 산화에 대한 스쿠알렌의 작용에 관한 구체적인 연구는 별로 없다.

본 연구는 자동산화 중의 콩기름 산화에 대한 스쿠알렌의 효과를 살피고, 같은 농도의 천연 토코페롤이 콩기름의 산화에 미치는 효과를 비교 검토한 결과이다.

재료 및 방법

1. 실험재료

기름은 제일제당(주) 콩기름 제품을 기질로 사용하였다. 항산화제로는 혼합-토코페롤(Eisai Co, Ltd., Tokyo, Japan)을 사용하였다. 본 실험에 사용된 천연 토코페롤과 스쿠알렌의 조성은 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. HPLC 및 GC 조건은 Table 1 및 Table 2와 같다.

2. 실험방법

1) 항산화제 용액 조제

항산화제는 에탄올에 녹여 기질에 첨가하였다. 혼합-토코페롤과 스쿠알렌은 기질에 200ppm 첨가하였다.

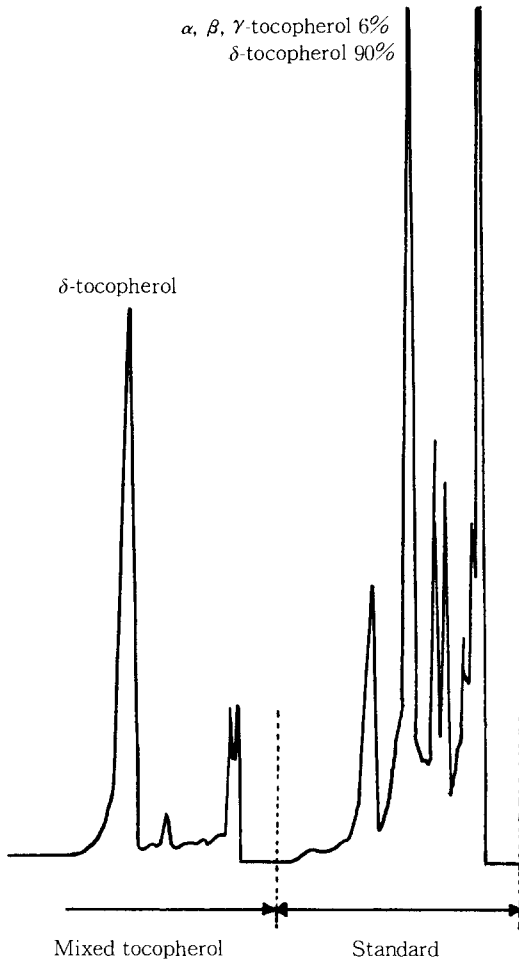


Fig. 1. HPLC profile of the mixed-tocopherols.

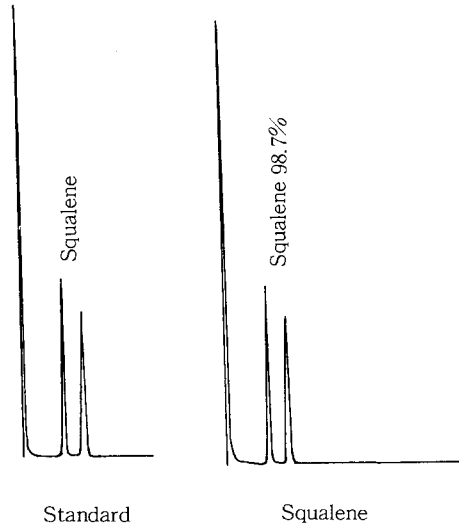


Fig. 2. Gas chromatogram of the squalene.

Table 1. The specification and operating conditions of the HPLC

Instrument	Waters 501
Column	Micro-porasil GPC 60Å
Mobile phase	Isooctane /isopropanol (99:1)
Flow rate	1.5ml /min
Detector	UV 254nm

Table 2. The specification and operating conditions of the gas chromatography

Instrument	Hewlett Packard model 5890 Series II
Detector	Flame ionization detector
Column	3.0% Silicon SE-30 on 60~80 mesh Chromosorb W (AW /DMCS), 3mm×2m
Injection temp.	290°C.
Column temp.	230°C.
Detector temp.	300°C.
Flow rate	N ₂ , 30ml /min

기질에 함께 들어간 에탄올은 항온수조를 사용하여 기질에서 완전히 증발, 제거시켰다.

2) 시료의 조제

시료는 300ml 비이커에 콩기름을 가하고, 대조구용 기질과, 스쿠알렌, 혼합-토코페롤을 200ppm씩 첨가한 후 45±0.5°C 항온기에서 자동산화시켰다. 그리고 5일 마다 15g의 시료를 채취하여 분석하였다.

3) 콩기름의 산화 분석

(1) 과산화물가 측정

과산화물가는 AOCS공정법²⁰⁾에 따라 분석하였다. 즉 시료 1kg 중에 함유되어 있는 과산화물의 mg 당량 수로 표시하였다. 시료 용액에 potassium iodide를 가하여 I₂를 유리시켜 이 I₂를 Na₂S₂O₃액으로 적정하여 과산화물도 산출하였다.

$$\text{Peroxide Value (meq/kg oil)} = \frac{(A-B) \times F \times N}{S} \times 1,000$$

여기서 A : 본 실험의 0.01N-Na₂S₂O₃ 소비량 적정치 (ml)

B : 바탕실험의 0.01N-Na₂S₂O₃ 소비량 적정치 (ml)

F : 0.01N-Na₂S₂O₃ 용액의 농도계수

S : 시료 채취량(g)

N : Na₂S₂O₃의 규정농도

(2) 이중산가 분석

이중산가(conjugated dienoic acid value)는 AOCS법 Tila - 64²¹⁾에 따라 측정하였다. 즉 100ml 플라스크에 90~130mg의 시료 유지를 넣고 75ml의 이소옥탄을 가하여 100ml로 하였다. 필요한 경우 희석하여 233nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 이중산가는 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{이중산가(\%공액)} = 0.84 \left(\frac{A}{bc} - K \right)$$

여기서 K : 산이나 에스테르의 흡광도

산 → 0.03

에스테르 → 0.07

A : 233nm의 흡광도

b : 셀의 길이 (1cm)

c : 리터당 샘플의 농도

(3) 산가, TBA값 카르보닐값의 측정

산가는 pearson의 방법²²⁾으로 측정하였다. 즉 시료를 3g정도 취해서 250ml 삼가플라스크에 담고 벤젠과 에탄올 혼합용액 (1:1) 50ml에 녹인 후 1% phenolphthalein용액 1ml를 가하고 0.1N KOH-ethanol용액으로 즉시 적정하였다.

TBA(Thiobarbituric acid)값은 Sidwell의 방법,²³⁾ 카르보닐값은 JOCS 방법²⁴⁾에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 콩기름의 물리화학적 특성

기질로 사용된 콩기름의 물리, 화학적 특성은 Table 3과 같다.

즉 과산화물가는 0.4±, 이중산가는 0.30±0.01, TBA값 0.06±0.02로 나타났다.

2. 토코페롤 및 스쿠알렌의 조성

토코페롤과 스쿠알렌의 조성은 Fig. 1 및 Fig. 2와 같다. 혼합 토코페롤의 조성은 α-β-γ-토코페롤이 6%, δ-토코페롤이 90%이었다. 스쿠알렌의 경우 순도 98.7%였다.

3. 콩기름의 자동산화에 미치는 토코페롤과 스쿠알렌의 영향

1) 과산화물가의 변화

45.0±0.5℃ 항온기에서 자동산화시킨 대조 기질과 혼합-토코페롤 및 스쿠알렌을 각각 200ppm 첨가한 기질의 과산화물가의 시간별 변화는 Table 4 및 Fig. 3과 같다.

식용유지 및 지방질 식품의 산패의 진행은 형성된 과산화물의 함량을 측정하거나 과산화물의 생성속도를 과산화물-시간 곡선에서 추정하거나, 과산화물가의 변화에서 얻은 유도기간의 길이를 측정하고 이 유도기간의 길이에서 추정하는 방법을 사용하여 왔다.^{35,36)} 대조구와 혼합-토코페롤 및 스쿠알렌을 각각 200ppm 첨가한 시료의 과산화물가는 초기에는 모두 0.4meq/kg oil이었으나 600시간 후에는 각각 60.0, 23.0 및 47.2였다.

각 기질의 유도기간을 자동산화중의 각 기질의 과산화물가 30meq/kg oil에 도달하는 시간으로 정했을 때 대조구와 혼합-토코페롤과 스쿠알렌을 첨가한 기질의 유도기간은 각각 448.5, 504.9와 668.9시간이었다.

Table 3. Some properties of the soybean oil

Characteristics	Soybean oil
Peroxide value	0.4 ± 0.1
Carbonyl value	1.16 ± 0.10
Acid value	0.02 ± 0.01
Thiobarbituric acid value	0.06 ± 0.02
Conjugated diene value	0.30 ± 0.01

Table 4. Changes of the peroxide value^{a)} of the control and other substrates autooxidized at 45.0±0.5°C for 25 day

Substrate	Time (day)				
	5	10	15	20	25
Control	1.2±0.1 ^{b)}	5.6±0.1	19.6±0.4	33.7±0.5	60.0±1.2
Tocopherol ^{c)}	1.0±0.1	1.4±0.1	1.9±0.1	7.4±0.2	23.0±0.3
Squalene ^{d)}	1.0±0.1	2.0±0.1	10.7±0.3	25.5±0.6	47.2±0.8

a : The peroxide value was determined by the AOCS method²⁰⁾, b : Mean of the triplicate ± standard deviation, c : Substrate with 200 ppm mixed-tocopherols, d : Substrate with 200 ppm squalene.

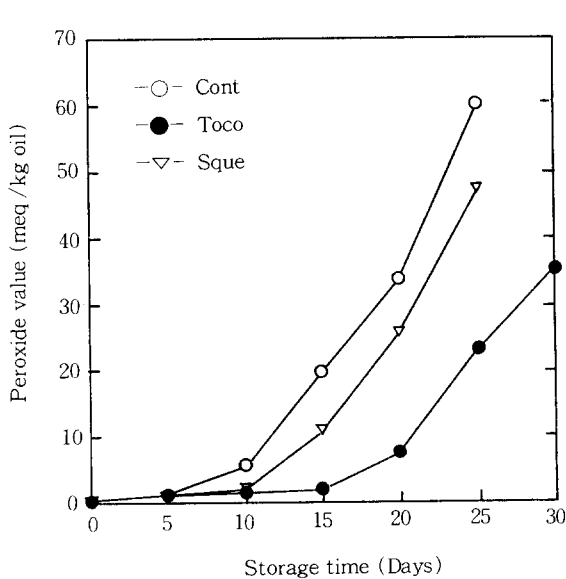


Fig. 3. Changes of the peroxide value of the control and other substrates autooxidized at 45.0±0.5°C for 25 days. —●— Substrate with 200 ppm mixed-tocopherols, —△— Substrate with 200 ppm squalene.

대조구 기질의 유도기간의 길이를 1로 하였을 때 스쿠알렌 첨가기질의 유도기간의 길이는 1.13이었고 혼합-토코페롤 첨가기질의 유도기간 길이는 1.49이었다. 따라서 스쿠알렌은 혼합-토코페롤보다 약하지만 항산화효

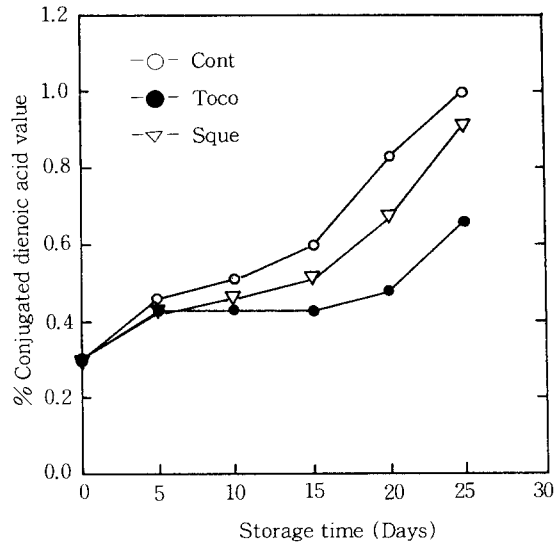


Fig. 4. Changes of the conjugated dienoic acid value of the control and other substrates autooxidized at 45.0±0.5°C for 25 days. —●— Substrate with 200 ppm mixed-tocopherols, —△— Substrate with 200 ppm squalene.

과는 있는 것으로 나타났다.

2) 이중산가의 변화

45.0±0.5°C에서 자동산화된 대조구와 각 시료구의 기질에 대한 이중산가의 변화는 Table 5 및 Fig. 4와

Table 5. Changes of the conjugated dienoic acid value^{a)} of the control and other substrates autooxidized at 45.0±0.5°C for 25 day

Substrate	Time (day)				
	5	10	15	20	25
Control	0.46±0.01 ^{b)}	0.51±0.01	0.60±0.01	0.83±0.02	1.02±0.03
Tocopherol ^{c)}	0.43±0.01	0.43±0.01	0.43±0.01	0.48±0.01	0.66±0.01
Squalene ^{d)}	0.42±0.01	0.46±0.01	0.51±0.01	0.67±0.06	0.91±0.02

a : The conjugated dienoic acid value was determined by the AOCS method²⁴⁾, b : Mean of the triplicate ± standard deviation, c : Substrate with 200 ppm mixed-tocopherols, d : Substrate with 200 ppm squalene.

같이 자동산화에 따라 증가하였다. 또한 대조구와 혼합-토코페롤 및 스쿠알렌을 각각 200ppm 첨가한 시료구의 기질들의 이중산가 변화는 실험직전 모두 0.30이었던으나 600시간 후에는 각각 1.00, 0.66과 0.91이었다. 이중산가는 과산화물가와 유사한 변화를 보였다.

따라서 스쿠알렌과 혼합-토코페롤은 항산화효과가 있으나 혼합-토코페롤이 스쿠알렌보다 효과가 크지만 스쿠알렌도 항산화제로서의 가능성이 있는 것으로 나타났다.

요 약

콩기름의 자동산화에 대한 스쿠알렌 및 혼합-토코페롤의 항산화효과를 비교 조사하였다. 자동산화는 45±0.5℃에서 시켰고, 항산화제인 스쿠알렌 및 혼합-토코페롤은 200ppm을 가하여 측정하고 각 기질에서 5일마다 과산화물가 %공액 이중산가를 측정하였다. 이를 화학적 특성 변화와 유도기간의 길이에서 각 시료 기질의 산화도를 추정하였다. 유도기간은 각 기질의 과산화물가가 30meq/kg oil에 도달하는데 필요한 시간으로 정하였다. 대조구 스쿠알렌, 혼합-토코페롤 첨가시료구의 기질유도기간은 448.5, 504.9 및 668.9시간이었고 유도기간의 상대적 비율은 각각 1, 1.13 및 1.49이었다. 이중산가변화는 각각 1.00, 0.91 및 0.66로 나타났다. 따라서 스쿠알렌은 콩기름의 산화를 억제시켰으나 효과는 혼합-토코페롤보다 낮았다. 즉 스쿠알렌은 자동산화시 정도의 차이는 있으나 콩기름의 산화를 억제하는 효과가 있다.

참고문헌

1. Wilson, E. D. : Principles of Nutrition, John Wiley & Sons, Inc., New York, p.71(1979).
2. Griffiths, B. : The role of fats in foods, food flavor, *Ingr. Proc. Pack*, **7**, 43(1985).
3. Perkins, E. G. : Nutritional and chemical changes occurring in heated fats, *Food Technol.*, **19**, 508(1969).
4. Smouse, T. H. : A review of soybean oil reversion flavor, *J. Am. oil Chem. Soc.*, **56**, 747A~751A(1979).
5. Labuza, T. P. : Kinetics of lipid oxidation in foods,

CRC Crit. Rev. Food Tech., **2**, 335(1971).

6. Alexander, J. C. : Biological effects due to changes in fats during heating : Symposium, *J. Am. oil Chem. Soc.*, **50**, 711(1978).
7. Augustim, M. A. : Efficacy of the antioxidants BHA and BHT in palm olein during heating and frying, *J. Am. oil Chem. Soc.*, **60**, 1520(1983).
8. Hung, S. S. O. and Slinger, S. J. : Studies of chemical methods for accessing oxidative quality and storage stability of feeding oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 785(1981).
9. 김동훈 : 식품화학, 탐구당, 서울, p.543(1988).
10. 梶本五郎 : 抗酸化劑の理論と實際, 三秀書房, 東京, p.3(1984).
11. 立石悌三郎 : 食品の加工と營養科學, 朝倉書店, 東京, p.45(1986).
12. Bamen, A. L. : Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 59(1975).
13. 山口直彦 : 天然抗酸化物質について, *New Food Industry*, **22**, 44(1980).
14. 山口直彦 : 天然抗酸化防止物質の開発研究の動向, *New Food Industry*, **32**, 68(1990).
15. Williams, K. A. : Oils, Fats and Fatty Foods, 4th ed., J. and A. Dhurchill Ltd., London(1966).
16. 김동훈 : 식품화학, 탐구당, 서울, p.492(1988).
17. Liu, G. C. K., Ahrens, E. H., Schreiberman, P. H. and Crouse, J. R. : Measurement of squalene in human tissues and plasma : Validation and application, *J. Lip. Res.*, **17**, 38(1976).
18. 福山忠男, 健康食品便覽, 食品と科學社, 大阪, p.71(1985).
19. Rao, M. K. and Achaya, K. T. : Antioxidant activity of squalene, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **44**, 296(1967).
20. A.O.C.S. : AOCS Official and Tentative Method, 2nd ed., *Am. Oil Chem. Soc.*, Chicago : Method Cd 8-53(1964).
21. A.O.C.S. : AOCS Official and Tentative Method, 2nd ed., *Am. Oil Chem. Soc.*, Chicago : Method Ti La-64(1964).
22. Pearson, D. : Laboratory Techniques in Food Analysis, Butter worth & Co. Ltd., London, p.215(1970).
23. Sidwell, C. G., et al. : The use of thiobarbituric acid value as a measure of fat oxidation, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **31**, 603(1954).
24. J.O.C.S. : JOCS Standard Method, Method No. 2.4. 22-73, Japanese Oil Chem. Soc., Tokyo(1980).
25. Sherwin, E. R. : Antioxidant for vegetable oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **53**, 430(1976).